

脳機能の性差と性分化に対するエストロゲン受容体 α と β の役割The role of estrogen receptor α and β
in sex difference and sex differentiation of the brain

金谷 萌子 (Moeko Kanaya) 指導: 山内 兄人

【緒言】生殖機能は脳によって制御されており、脳の構造と機能には雌雄差がある。雌では周期的な生殖腺刺激ホルモンの分泌が見られ黄体形成ホルモン (LH) のサージが排卵を誘発するが、雄ラットではLHの分泌は一定でサージ状分泌は見られない。また性行動パターンも雌雄で異なる。これらの性差決定には新生期のテストステロンが重要であり、ラットの脳神経細胞ではテストステロンはエストロゲンに芳香化されて作用する。そのため、エストロゲン受容体 (ER) が重要な役割を持つ。ERには α と β があるが、脳機能の性分化にどちらが必要なのか不明である。この点を明らかにするためそれぞれの作動剤を用いて雄性化効果を調べた (実験 I)。また、成熟ラットではER α が生殖機能制御の中心的役割を担っており、エストロゲンによるダウンレギュレーションは重要なメカニズムである。実験 II では視床下部におけるER α のダウンレギュレーションにER α と β がどのように関与するか、それぞれの作動剤を用いて調べた。本研究は全て早稲田大学実験動物に関する指針に沿って行なった (承認番号10J011、2011-A006)。

【実験 I】雌ラットの性周期とロードーシス行動に対するエストロゲン受容体 α 、 β 作動剤新生期投与効果

雌ラットにER α 作動剤(propyl pyrazole triol, PPT, 100、250または500 μ g/10g bw)、ER β 作動剤(diarylpropionitrile, DPN, PPTと同量)、100 μ g/10g bw estradiol (E_2) またはsalineを出生5日目に皮下注射した。膣開口と膣スメアを調べ、出生60日目に卵巣摘出を行い、卵巣は固定し組織検査を行った。卵巣摘出1、2週間後にエストロゲン含有シリコンチューブを皮下挿入し、その2、4、6日後にロードーシス行動観察を行った。

膣開口: saline、低濃度のDPN群は35-36日で、 E_2 、PPT群は35-36日で開いた。

性周期: E_2 、PPT群は全て非周期性を示した。高濃度DPN群は非周期性を示したが低濃度の場合は正常であった。卵巣重量、黄体: 卵巣は E_2 群ではsaline群より小さく、PPT群は用量依存的に減少した。DPN群はsaline群と同程度であった。 E_2 群全個体とPPT群の数個体を除いて黄体があった。

ロードーシス: E_2 群はsaline群に対しLQが低かった。250、500 μ g PPT群は対照群より低くなったが E_2 群より高かつ

た。DPN投与群はsaline群と同程度であった。

PPT投与は膣開口を早めたがDPN投与は効果がなかったため膣開口作用はER α を介して行われている。PPTと高濃度DPNは性周期を消失させたことから、エストロゲンによる性周期阻害はER α に作用して生じていると考えられるが、ER β の関与も否定できない。PPTはLQを低下させたがDPNは全く効果を及ぼさなかったことから、エストロゲンによるロードーシス低下はER α の働きである。

【実験 II】ラット視床下部エストロゲン受容体 α 免疫陽性細胞数に対するエストロゲン受容体 α 、 β 作動剤投与効果

ER α 、 β それぞれの作動剤であるPPT、DPNか E_2 を1mg、またはoilを8週齢の卵巣除去ラットに投与した。約24時間後、ソムノペンチル麻酔下で灌流固定を行なった。その後クリオスタットを用いて厚さ40 μ mの脳の凍結切片を作成し、ER α 免疫染色を行った。前腹側脳室周囲核 (AVPV)、視床下部腹内側核腹外側部 (vIVMN) 及び弓状核 (ARCN) における0.2mmの正方形枠内のER α 免疫陽性(-ir) 細胞数を計測し、1mm³中の値に換算した。

AVPV: ER α -ir細胞数はoil群と比べて E_2 群では有意に少なかったがPPT、DPN群では違いがなかった。

vIVMN: ER α -ir細胞数は全ての群でoil群より有意に少なかった。

ARCN: PPTと E_2 群のER α -ir細胞数はoil群より少なかったが、DPN群では違いがなかった。

AVPVにおいては E_2 以外効果がなかったことからダウンレギュレーションのエストロゲンに対する感受性が低い可能性がある。それに対し、vIVMNではPPTとDPNによって E_2 と同様にER α の顕著な減少が認められたことから、この神経核のER α ダウンレギュレーションにおけるエストロゲンへの感受性は高く、ER α だけでなくER β も関わっていると考えられる。一方でARCNにおいては E_2 とPPTに効果が見られたがDPNでは効果がなかった。この神経核もエストロゲンに対する感受性は強いが、ER β の関与の可能性は少ないと考えられる。このように視床下部では神経核によりER α ダウンレギュレーションにおけるエストロゲンへの反応に違うメカニズムが存在する可能性が示唆された。